富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂对围产期奶牛生产性能及健康状况的影响

叶耿坪　张晓峰　王文丹　刘光磊　苏衍菁　唐新仁*

(光明牧业有限公司，上海 200436)

摘　要：本试验旨在研究富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂对围产期奶牛生产性能和健康状况的影响。采用完全随机区组设计，依据胎次、体况评分、上一泌乳周期总产奶量和预产期将 96 头荷斯坦奶牛随机分为 4 组，分别为对照组、低剂量（LD）组、中剂量（MD）组和高剂量（HD）组，每组 24 头。4 组奶牛基础饲粮中分别添加 0、40、80 和 120 g/（头·d）富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂（过瘤胃胆碱含量≥95%，硒含量≥0.2%）。预试期为产前 21 d 至产前 15 d，正试期为产前 14 d 至产后 28 d。测定干物质采食量（DMI），血浆生化指标，肝脏组织中抗氧化指标、关键抗氧化蛋白和脂质转运蛋白的 mRNA 相对表达量。结果显示：1）各组 DMI、体重变化、体况评分变化和产犊系数评分差异均不显著（P>0.05）。2）饲粮中添加富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂对奶牛泌乳性能影响不显著（P>0.05），但 MD 组和 HD 组产奶量分别比对照组高 1.8 和 1.6 kg/d。3）在产后，与对照组和 LD 组相比，MD 组和 HD 组甘油三酯（TG）含量及谷草转氨酶（AST）和谷丙转氨酶（ALT）活性显著降低（P<0.05）。4）MD 组和 HD 组奶牛的血浆、肝脏组织和乳中硒含量显著高于对照组（P<0.05）。5）与对照组和 LD 组相比，MD 组和 HD 组肝脏组织中 TG 含量显著降低（P<0.05）。6）MD 组和 HD 组肝脏组织中的总抗氧化能力（T-AOC）及超氧化物歧化酶（SOD）和谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）活性显著高于对照组和 LD 组（P<0.05），而肝脏组织中丙二醛（MDA）和过氧化氢（H_2O_2）含量显著低于对照组和 LD 组（P<0.05）。7）试验组肝脏组织中细胞型谷胱甘肽过氧化物酶（*GPx*1）、微粒体甘油三酯转运蛋白（*MTTP*）和载脂蛋白 B100（*ApoB*100）的 mRNA 相对表达量均显著高于对照组（P<0.05），但对肝脏组织中磷脂氢谷胱甘肽过氧化物酶（*GPx*4）的 mRNA 相对表达量无显著性影响（P>0.05）。结果提示，富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂有提高产奶量的趋势，有效维护肝脏功能，最适添加量是 80 g/（头·d）。

关键词：过瘤胃胆碱；硒；新型添加剂；围产期奶牛；生产性能；甘油三酯

收稿日期：2017-09-19

作者简介：叶耿坪（1985-），男，上海人，高级畜牧师，博士，主要从事奶牛标准化养殖、营养管理、奶牛保健、奶牛添加剂和预混料新产品及易耗品研究。E-mail: ygphappy@163.com

***通信作者：**唐新仁，兽医师，E-mail: tangxinren2016@163.com

中图分类号：S816.7；S823

围产期奶牛因干物质采食量（DMI）下降，胎儿后期生长和泌乳对能量的需求增多，导致体脂动员增强，过度的体脂动员产生的非酯化脂肪酸（NEFA）在肝脏中难以全部氧化供能，进而在肝脏中再酯化为甘油三酯（TG），最终引发脂肪肝等能量代谢病，损坏肝脏功能，影响健康状况，降低生产性能[1-3]。胆碱（需包被才能有效吸收利用）在机体内能合成磷脂酰胆碱，后者能促进极低密度脂蛋白（VLDL）合成，进而促进肝脏组织中 TG 的利用而有效防止 TG 的沉积，保护肝脏功能，提高泌乳性能[4-7]。郑家三等[8]的研究表明，围产期奶牛饲粮添加过瘤胃胆碱能延缓血浆葡萄糖（Glu）含量的下降，显著降低奶牛血浆β-羟丁酸（BHBA）、NEFA 和总胆固醇含量。Cooke 等[9]的研究也表明，过瘤胃保护胆碱可降低肝脏组织中 TG 沉积。Elek 等[10]也证明，饲粮添加 60 g/d 的过瘤胃保护胆碱可有效降低奶牛围产期肝脏脂肪和 TG 含量。此外，围产期奶牛肝脏组织中 NEFA 氧化供能过程中会产生氧化产物，会造成机体氧化应激，也会损伤肝脏功能[11-12]。硒能促进抗氧化蛋白酶的合成而清除肝脏组织中氧化产生的氧化产物，从而起到抗氧化作用，维护奶牛机体健康[13-14]。而奶牛养殖中，常常忽视围产期奶牛发生能量代谢病的同时也遭受着氧化应激。本研究团队组合了胆碱和硒，研发出富硒和过瘤胃胆碱的新型护肝专用的添加剂，在理论上具有胆碱和硒的双重功能，在防治能量代谢病的同时清除自由基等氧化产物，维护肝功能，促进奶牛机体健康。本试验在围产期奶牛饲粮中添加该富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂，研究对生产性能和健康状况的影响，为此新型添加剂在奶牛生产上的推广应用提供理论依据和数据支持。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂：由光明牧业有限公司生产，其中过瘤胃胆碱含量≥95%（胆碱含量≥25%，有效利用率≥75%），硒含量≥0.2%。

1.2 试验动物与饲养管理

1.2.1 试验地点及试验动物

试验地点：上海市星火奶牛二场。

试验动物：96 头健康的荷斯坦奶牛，产前 21 d 左右、(2.17±0.21)胎次、体况评分为 3.47±0.11、上一胎次总产奶量为（10.82±0.56） t。

1.2.2 基础饲粮及饲养管理

奶牛双列对尾栓系式饲养，自由饮水。参照 NRC（2001）奶牛营养需要并结合生产实践配制

基础饲粮，以全混合日粮（TMR）形式饲喂[15]。基础饲粮组成及营养水平见表 1，每天分 3 次（06:00、13:30 和 19:00）饲喂，采用机械发料车发料，每日保留有 5%剩料量以便 DMI 检测。每个饲喂时间点挤奶 1 次。

表 1　基础饲粮组成及营养水平（干物质基础）

Table 1　Composition and nutrient levels of basal diets （DM basis）　%

项目 Items	产前 Prepartum	产后 Postpartum
原料 Ingredients		
青贮玉米 Corn silage	48.0	39.0
苜蓿干草 Alfalfa hay		9.8
燕麦干草 Oats hay	6.0	3.9
羊草 Chinese wildrye	12.0	
商品化产前精料 Commercial concentrate of perinatal prophase[1)]	22.1	
商品化产后精料 Commercial concentrate of postpartum prophase[1)]		39.0
光棉籽 Cottonseed without lint		3.9
甜菜粕 Beet meal		4.2
金针菇菌渣 Flammulina velutipes residuals	12.0	
合计 Total	100.0	100.0
营养水平 Nutrient levels/%[2)]		
干物质 DM	53.50	58.30
泌乳净能 NE_L/(MJ/kg)	6.4	7.05
粗蛋白质 CP	14.5	16.2
中性洗涤纤维 NDF	48.2	33.8
酸性洗涤纤维 ADF	21.5	20.2
钙 Ca	0.42	1.12
磷 P	0.44	0.46

[1)] 商品化产前精料、商品化产后精料购自光明牧业有限公司，主要由玉米、大麦、豆粕、干酒糟及其可溶物、矿物质、预混料组成。Commercial concentrates of perinatal and postpartum prophase were brought from Bright Farming Co., Ltd., and were consisted of corn, barley, soybean meal, DDGS, minerals, premix.

[2)] 泌乳净能为计算值，根据 NRC（2001）中原料的泌乳净能计算得出；其他营养水平为实测值，由上海光明荷斯坦牧业有限公司检测中心检测，粗蛋白质、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维、钙和磷含量分别采用 GB/T 6432-1994、GB/T 20806-2006、NY/T 1459-2007、GB/T 6436-2002 和 GB/T 6437-2002 方法检测。NE_L was a calculated value, which was calculated according to NE_L of ingredients in NRC (2001); other nutrient levels were measured values, which were measuered by Test Center of *Shanghai* Bright Holstan Co., Ltd. Contents of CP, NDF, ADF, Ca, and P were measured by the methods in GB/T 6432-1994, GB/T 20806-2006, NY/T 1459-2007, GB/T 6436-2002 and GB/T

6437-2002, respectively.

1.3　试验设计

采用完全随机区组设计，根据胎次、上一泌乳周期总产奶量、体况评分、预产期等将 96 头受试奶牛分为 4 组，分别为对照组、低剂量（LD）组、中剂量（MD）组和高剂量（HD）组，每组 24 头，分组信息见表 2，对照组及 LD、MD 和 HD 组奶牛基础饲粮中分别添加 0、40、80 和 120 g/（头·d）的富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂，于晨饲前将添加剂拌于 1/3 的基础饲粮中饲喂。预试期为产前 21 d 至产前 15 d，正试期为产前 14 d 至产后 28 d，每周为 1 个采样周期。

表 2　试验奶牛分组信息

Table 2　Grouping information of dairy cows

项目 Items	组别 Groups				SE	*P* 值 *P*-value
	对照 Control	低剂量 LD	中剂量 MD	高剂量 HD		
奶牛头数 Cow number/头	24	24	23	23		
上一泌乳周期总产奶量 Total milk yield of the last lactation period/t	10.66	10.92	11.14	10.55	0.22	0.40
初始体况评分 Initial BCS	3.47	3.46	3.44	3.49	0.04	0.72
胎次 Parity	2.21	2.14	2.23	2.08	0.17	0.79

2 头奶牛因健康问题（与试验处理无关）被剔除。

Tow cows were removed because of health problem unrelated to experimental treatment.

1.4　样品采集与处理

1.4.1　奶样的采集与处理

挤奶采用真空管道式挤奶设备，记录产犊后每天早中晚的产奶量。于产后每个采样周期的最后 3 d 连续采集早、中、晚 3 次的乳样，按 4:3:3 混合后，取 50 mL，加入 5%重铬酸钾防腐，迅速置于 4 ℃恒温冰箱内送检。

1.4.2　血浆样品的采集与处理

于产前 14、7 d，分娩当天，产后 7、14、21 和 28 d 晨饲前采集尾根静脉血，肝素钠抗凝，4 ℃下 3 500 r/min 离心 15 min，分离血浆，血浆样于-20 ℃下冷冻保存送检。

1.4.3　肝脏组织样品的采集与处理

产后 14 d，从每组中随机挑选 5 头牛，空腹条件下站立保定，用穿刺针从髋结节到右前肢肘关节的连线与第 10 根和第 11 根肋骨间隙（体型较短的奶牛，为第 11 根和第 12 根肋骨间隙）交叉点上移 2.5~3.5 cm 穿刺采集肝脏组织，用预冷灭菌的生理盐水冲洗组织，并分装于冻存管中，液氮保存[16]。样品用于测定肝脏组织中硒含量、TG 含量、抗氧化指标及关键抗氧化蛋白和脂质转运蛋白的 mRNA 相对表达量。

1.5 指标测定

1.5.1 DMI

正试期内每天采集饲粮，分别记录各组奶牛每天的发料量和剩料量，每天的采食量通过发料量减去剩料量获得。正试期结束后，将采集的饲粮样品解冻并充分混合，按照四分法采样，放置于 55 ℃恒温烘箱内烘干至恒重，测定饲粮中的干物质含量，再根据采食量和干物质含量计算 DMI。

1.5.2 体重、体况评分与产犊系数评分

正试期第 1 天和最后 1 d 测定各组奶牛的晨饲前的体重，分别进行体况评分，评分方式采用 5 分制，参照 Wildman 等[17]的方法。受试奶牛产犊时，对奶牛产犊系数进行评分，评分制如下：1 分为产犊容易；2 分为轻微困难；3 分为需要助产；4 分为相当困难；5 分为需剖宫产[18]。

1.5.3 乳成分

采用 FOSS 多功能乳成分自动分析仪测定乳脂率、乳蛋白率、乳糖率、乳固形物含量、乳尿素氮含量和乳体细胞数等。采用以下公式计算 4%乳脂校正乳产量：

4%乳脂校正乳产量=0.4×产奶量（kg/d）+0.15×乳脂率（%）×产奶量（kg/d）。

1.5.4 血浆生化指标和肝脏组织抗氧化指标

血浆生化指标和肝脏组织抗氧化指标均采用南京建成生物工程研究所试剂盒进行测定。血浆生化指标:Glu、NEFA、BHBA、TG 含量及谷草转氨酶（AST）和谷丙转氨酶（ALT）活性的检测所用试剂盒编号分别为 F006、A042-1、H169、F001、C010-1 和 C009；肝脏组织抗氧化指标：总抗氧化能力（T-AOC）,超氧化物歧化酶（SOD）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）活性，丙二醛（MDA）和过氧化氢（H_2O_2）含量的检测所用试剂盒编号分别为 A015、A001-1、A005、A003-1 和 A064。样品检测均采用比色法，测定波长遵照各试剂盒检测要求，用酶标仪（iMark，美国 BIO-RAD 公司）进行测定。

1.5.5 血浆、肝脏组织和乳中硒含量

血浆、肝脏组织和乳中硒含量的检测参照吴显实[19]的方法。

1.5.6　肝脏组织中 TG 含量

肝脏组织中的 TG 含量采用比色酶联免疫检测方法测定，具体步骤参照 Schwartz 等[20]的方法。

1.5.7　肝脏组织中关键抗氧化蛋白和脂质转运蛋白的 mRNA 相对表达量取肝脏组织样品采用 RNAiso Plus 提取总 RNA；总 RNA 用 PrimeScript™ RT Master Mix 进行逆转录；以逆转录产物 cDNA 为模板，用试剂 Premix Taq™（TaKaRa）进行引物验证；最后以逆转录产物 cDNA 为模板，利用试剂 UltraSYBR Mixture（北京康为世纪生物科技有限公司）实时定量 PCR 检测肝脏组织中细胞型谷胱甘肽过氧化物酶（*GPx*1）、磷脂氢谷胱甘肽过氧化物酶（*GPx*4）、微粒体甘油三酯转运蛋白(*MTTP*)和载脂蛋白 B100(*ApoB*100)的 mRNA 相对表达量，以β-肌动蛋白(β-actin)为内参基因，采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法分析目的基因 mRNA 的相对表达量，具体操作参照叶耿坪等[16]的方法，所用引物序列见表 3。

表 3　实时定量 PCR 引物序列

Table 3　Primers for real-time qPCR

基因 Genes	GenBank 登录号 GenBank accession No.	引物序列 Primer sequences(5′-3′)	片段大小 Product size/bp	参考文献 Reference
β-肌动蛋白 β-actin	AY141970.1	F:GCAGGTCATCACCATCGG R:CCGTGTTGGCGTAGAGGT	158	
细胞型谷胱甘肽过氧化物酶 *GPx*1	NM_174076.3	F:CTTGCTGCTTGGCGGTCA R:AGGGGAGGCTGGGATGGATA	139	
磷脂氢谷胱甘肽过氧化物酶 *GPx*4	NM_174770.3	F:CAACCAGTTTGGGAGGCAGG R:TCACCACACAGCCGTTCTTG	227	
微粒体甘油三酯转运蛋白 *MTTP*	NM_001101834.1	F:TGGTCCACTGTCCTTTAT R:GAACTCACCTGCCAATAC	255	
载脂蛋白 B100 *ApoB*100		F:GACAATGCCACAATCAACCTT R:TTGTCTTAAAATCATGCAAATCA	109	孙玉成等[21]

1.6　数据统计分析

数据采用 SAS 9.2 的 Mixed 模型进行复合对称协方差结构（compound symmetry covariance structure）分析，结果以 Duncan 氏法进行多重比较，结果以平均值±标准误（mean±SD）表示，P<0.05 表示差异显著，0.05≤P<0.15 表示具有作用趋势。

2　结果与分析

2.1 生产性能

由表 4 可知，各组奶牛产前、产后及全期 DMI 差异不显著（P>0.05），各组体重变化和体况评分变化及产犊系数评分差异均不显著（P>0.05）。

表 4 富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂对围产期奶牛生产性能的影响

Table 4 Effects of a new type of additive with Se and rumen-protected choline on production performance of dairy cows in transition period

项目 Items	组别 Groups			
	对照 Control	低剂量 LD	中剂量 MD	高剂量 HD
干物质采食量 DMI/(kg/d)				
产前 Prepartum	13.1±0.3	13.3±0.3	13.2±0.3	13.4±0.3
产后 Postpartum	19.5±0.3	19.4±0.2	19.8±0.3	19.7±0.3
全期 Whole period	16.4±0.3	16.5±0.3	16.6±0.3	16.5±0.3
体重变化 BW change/kg	-72.5±3.2	-70.1±2.9	-70.3±3.0	-71.4±3.3
体况评分变化 BCS change/分	-0.23±0.03	-0.22±0.03	-0.20±0.03	-0.19±0.03
产犊系数评分 CC score/分	1.57±0.22	1.64±0.25	1.56±0.20	1.55±0.20

2.2 泌乳性能

由表 5 可知，各组间产奶量、4%乳脂校正乳产量、乳脂率、乳蛋白率、乳糖率及乳中总固形物和尿素氮含量差异均不显著（P>0.05），MD 和 HD 组产奶量分别比对照组高 1.8 和 1.6 kg/d，有增加产奶量的趋势，但组间差异不显著（P>0.05）。

表 5 富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂对围产期奶牛泌乳性能的影响

Table 5 Effects of a new type of additive with Se and rumen-protected choline on lactation performance of dairy cows in transition period

项目 Items	组别 Groups			
	对照 Control	低剂量 LD	中剂量 MD	高剂量 HD
产奶量 Milk yield/(kg/d)	45.0±0.9	45.5±1.1	46.8±0.9	46.6±0.9
4%乳脂校正乳产量 4% FCM yield/(kg/d)	41.4±1.1	41.9±1.3	43.5±1.1	42.2±1.1
乳脂率 Milk fat percentage/%	3.57±0.16	3.53±0.19	3.60±0.16	3.53±0.16
乳蛋白率 Milk protein percentage/%	3.29±0.03	3.29±0.03	3.32±0.03	3.31±0.03
乳糖率 Lactose percentage/%	4.98±0.02	5.00±0.03	5.02±0.02	5.00±0.02
乳中总固形物含量 Milk total solids content/%	12.60±0.19	12.75±0.22	12.52±0.18	12.40±0.19
乳中尿素氮含量 Milk urea-N content/(mg/dL)	12.93±0.33	13.03±0.38	12.51±0.31	13.11±0.33
乳中体细胞数 Milk SCC/(10^3 个/mL)	80.2±11.4^{ab}	72.4±14.1^{ab}	54.6±11.1^{b}	92.7±12.1^{a}

2.3 血浆生化指标

由表 6 可知，饲粮添加富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂对围产期奶牛血浆中 Glu、NEFA 和 BHBA 浓度无显著性影响（*P*>0.05）。在产前，饲粮添加富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂对奶牛血浆中 TG 含量及 AST 和 ALT 活性也无显著性影响（*P*>0.05），但在产后，与对照组和 LD 组相比，MD 组和 HD 组血浆 TG 含量及 AST 和 ALT 活性显著降低（*P*<0.05），从全期来看，与对照组和 LD 组相比，MD 组和 HD 组血浆 TG 含量及 AST 活性显著降低（*P*<0.05）。

表 6　富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂对围产期奶牛血浆生化指标的影响

Table 6　Effects of a new type of additive with Se and rumen-protected choline on plasma biochemical indexes of dairy cows in transition period

项目 Items		组别 Groups			
		对照 Control	低剂量 LD	中剂量 MD	高剂量 HD
葡萄糖 Glu/(mmol/L)	产前 Prepartum	3.57±0.11	3.51±0.15	3.34±0.11	3.47±0.11
	产后 Postpartum	2.83±0.07	2.67±0.08	2.73±0.07	2.66±0.07
	全期 Whole period	3.08±0.06	2.95±0.07	2.94±0.06	2.93±0.06
游离脂肪酸 NEFA/(μmol/L)	产前 Prepartum	276.6±21.6	292.3±27.97	306.5±21.68	265.7±21.16
	产后 Postpartum	330.4±14.2	341.9±15.7	345.0±13.6	341.7±14.2
	全期 Whole period	312.4±11.9	325.4±14.0	332.2±11.6	316.4±11.8
β-羟丁酸 BHBA/(μmol/mL)	产前 Prepartum	1.10±0.03	1.08±0.04	1.19±0.03	1.10±0.03
	产后 Postpartum	1.32±0.037	1.38±0.04	1.36±0.036	1.38±0.037
	全期 Whole period	1.24±0.028	1.28±0.03	1.30±0.027	1.29±0.028
甘油三酯 TG/(mmol/L)	产前 Prepartum	0.71±0.03	0.66±0.04	0.68±0.03	0.67±0.03
	产后 Postpartum	0.58±0.018^{a}	0.59±0.019^{a}	0.54±0.017^{b}	0.53±0.018^{b}
	全期 Whole period	0.62±0.016^{a}	0.61±0.018^{a}	0.58±0.015^{b}	0.58±0.015^{b}
谷丙转氨酶 ALT/(U/L)	产前 Prepartum	2.65±0.17	2.57±0.22	2.38±0.17	2.38±0.166
	产后 Postpartum	2.61±0.10^{a}	2.53±0.11^{a}	2.20±0.099^{b}	2.23±0.10^{b}
	全期 Whole period	2.63±0.088	2.54±0.10	2.26±0.086	2.28±0.088
谷草转氨酶 AST/(U/L)	产前 Prepartum	6.46±0.35	5.86±0.45	5.75±0.35	5.82±0.34
	产后 Postpartum	7.24±0.267^{a}	7.17±0.295^{a}	6.36±0.255^{b}	6.26±0.267^{b}
	全期 Whole period	6.98±0.215^{a}	6.73±0.25^{a}	6.15±0.209^{b}	6.11±0.22^{b}

同行肩标字母不同表示差异显著（*P*<0.05），同列不同大写字母表示差异极显著（P<0.01）。下表同。

Value with different superscripts letters mean significant difference in the same row(*P*<0.05),value with different capical letters mean remarkable difference. The same as below.

2.4　血浆、肝脏组织和乳中硒含量

由表 7 可知，与对照组相比，MD 组和 HD 组血浆、肝脏组织和乳中的硒含量显著提高（*P*<0.05），MD 组与 HD 组之间无显著差异（*P*>0.05），LD 组与其他各组差异不显著（*P*>0.05）。

表 7　富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂对围产期奶牛血浆、肝脏组织和乳中硒含量的影响

Table 7　Effects of a new type of additive with Se and rumen-protected choline on Se content in plasma, liver tissue and milk of dairy cows in transition period　　μg/L

项目 Items	组别 Groups			
	对照 Control	低剂量 LD	中剂量 MD	高剂量 HD
血浆 Plasma	153.7±7.1[b]	165.1±6.2[ab]	169.1±8.3[a]	173.0±10.0[a]
肝脏组织 Liver tissue	281.5±19.6[b]	301.1±21.4[ab]	310.8±19.5[a]	309.2±21.8[a]
乳 Milk	32.5±2.7[b]	37.4±3.1[ab]	41.2±2.3[a]	42.0±2.9[a]

2.5　肝脏组织中 TG 含量

由图 1 可知，与对照组相比，LD 组、MD 组和 HD 组奶牛肝脏组织中的 TG 含量均显著下降（P<0.05）。与 LD 组相比，MD 组和 HD 组奶牛肝脏组织中 TG 含量也显著下降（P<0.05），MD 组与 HD 组差异不显著（P>0.05）。

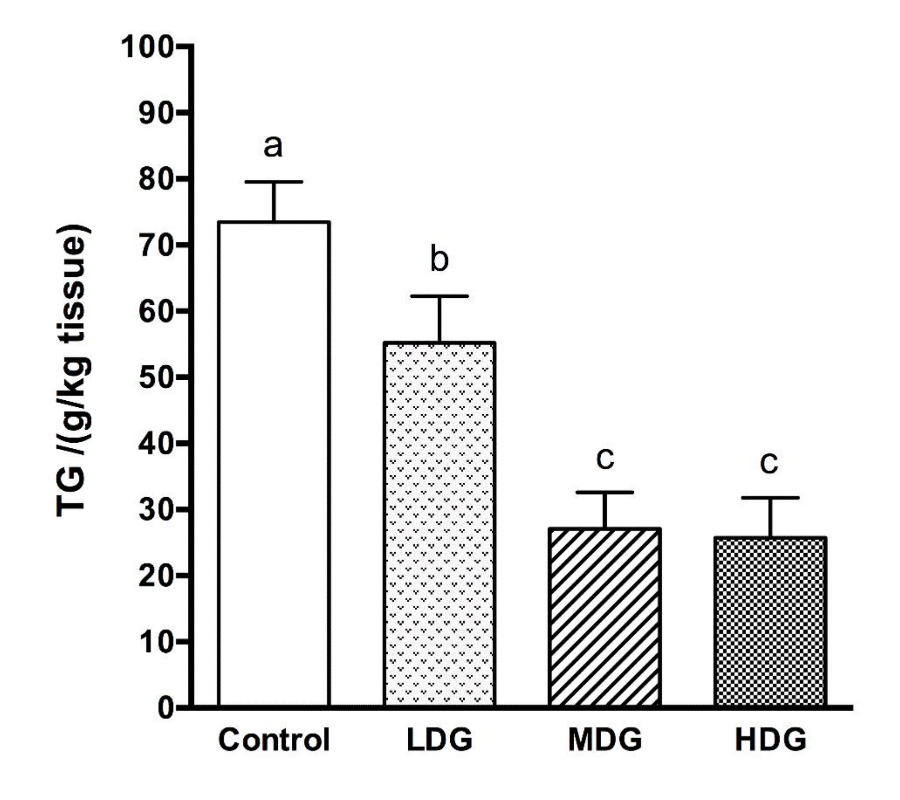


图 1　富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂对围产期奶牛肝脏组织中 TG 硒含量的影响

Fig.1　Effects of a new type of additive with Se and rumen-protected choline on TG content in liver tissue of dairy cows in transition period

2.6　肝脏组织抗氧化指标

由表 8 可知，与对照组相比，LD、MD 和 HD 组肝脏组织 T-AOC 及 SOD 和 GSH-Px 活性显著升高（$P<0.05$），而 H_2O_2 和 MDA 含量显著降低（$P<0.05$）。与 LD 组奶牛相比，MD 和 HD 组肝脏组织 T-AOC、SOD 和 GSH-Px 活性也显著升高（$P<0.05$），H_2O_2 和 MDA 含量也显著降低（$P<0.05$），MD 组与 HD 组各肝脏组织抗氧化指标无显著差异（$P>0.05$）。

表 8　富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂对围产期奶牛肝脏组织抗氧化指标的影响

Table 8　Effects of a new type of additive with Se and rumen-protected choline on liver tissue antioxidant capacity of dairy cows in transition period

项目 Items	组别 Groups			
	对照 Control	低剂量 LD	中剂量 MD	高剂量 HD
总抗氧化能力 T-AOC/(U/mg prot)	0.51±0.12[c]	0.95±0.08[b]	1.61±0.09[a]	1.58±0.13[a]
超氧化物歧化酶 SOD/(U/mg prot)	217.6±5.11[c]	261.2±7.3[b]	402.5±11.1[a]	398.1±10.8[a]
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px/(U/mg prot)	136.5±15.1[c]	271.5±11.7[b]	406.3±15.2[a]	411.3±13.1[a]
丙二醛 MDA/(nmol/mg prot)	11.11±1.05[a]	7.29±0.45[b]	2.02±0.46[c]	1.95±0.51[c]
过氧化氢 H_2O_2/(nmol/mg prot)	271.2±22.1[a]	183.9±15.2[b]	61.4±4.1[c]	65.7±4.8[c]

2.7　肝脏组织中关键抗氧化蛋白和脂质转运蛋白 mRNA 相对表达量

由图 2 可知，与对照组相比，试验组奶牛肝脏组织中 *GPx*1 的 mRNA 相对表达量显著升高（$P<0.05$），各试验组之间差异均不显著（$P>0.05$）。各组肝脏组织中 *GPx*4 的 mRNA 表达量无显著差异（$P>0.05$）。与对照组相比，试验组肝脏组织中 *MTTP* 和 *ApoB*100 的 mRNA 相对表达量显著提高（$P<0.05$），且 MD 组和 HD 组显著高于 LD 组（$P<0.05$），但 MD 组与 HD 组奶牛之间无显著差异（$P>0.05$）。

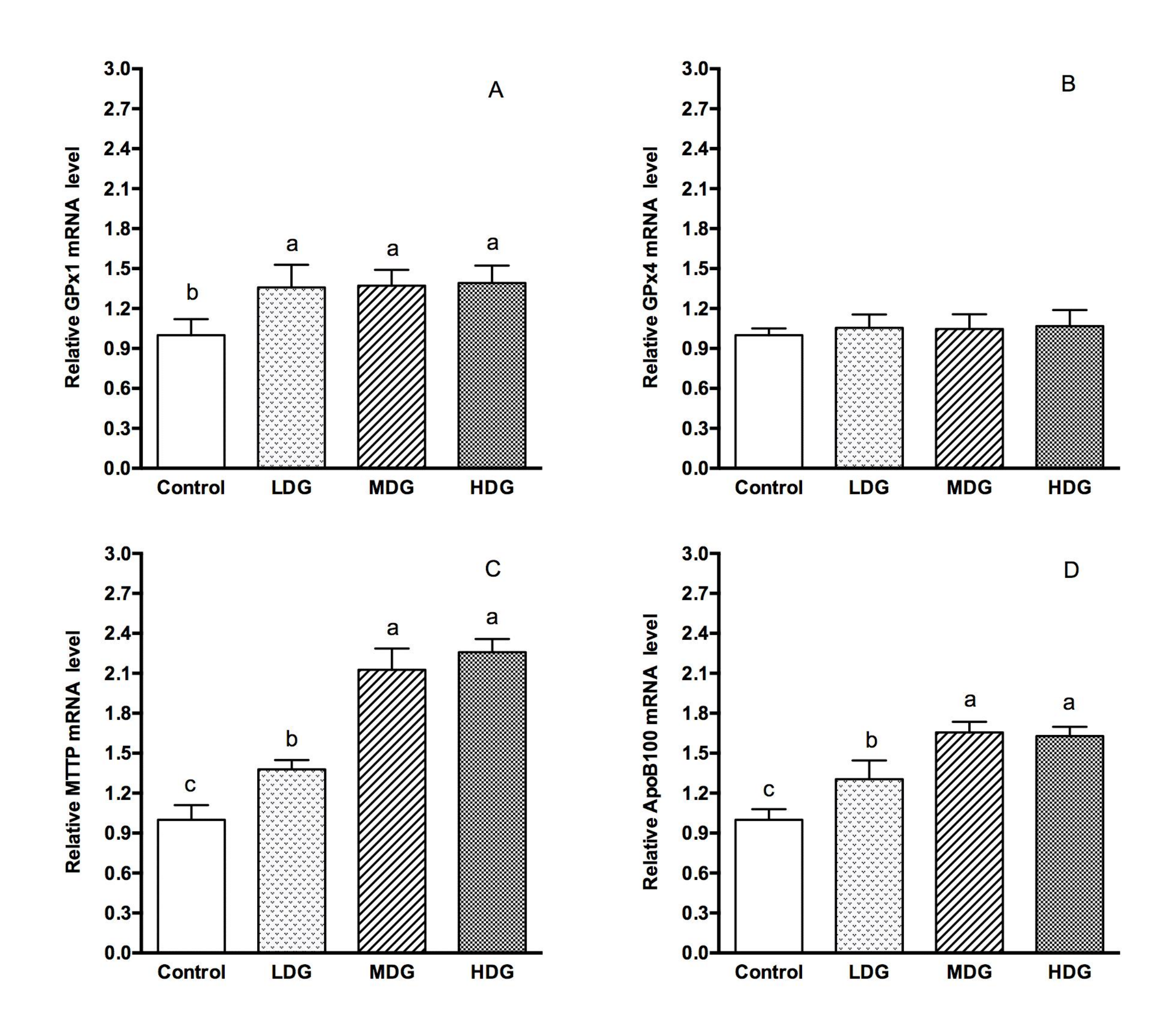


图 2　富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂对围产期奶牛肝脏组织 *GPx*1（A）、*GPx*4（B）、*MTTP*（C）和 *ApoB*100 mRNA 相对表达量（D）的影响

Fig.2　Effects of a new type of additive with Se and rumen-protected choline on mRNA relative expression levels of *GPx*1（A）, *GPx*4（B）, *MTTP*（C） and *ApoB*100 （D） in liver tissue of dairy cows in transition period

3　讨　论

处于围产期的奶牛，由于体内未分娩犊牛的发育及奶牛本身内分泌的急剧变化而使 DMI 下降，加之产后泌乳的需要，出现围产期奶牛能量负平衡，严重影响奶牛的机体健康，给奶牛养殖造成很大的经济损失。如何维持奶牛能量负平衡下机体的健康，是保证奶牛生产性能发挥的关键。

本试验中，各组间奶牛的 DMI、体重变化、体况评分变化、产犊系数评分及乳成分无显著差异。与对照组相比，添加 80 g/（头·d）的富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂对产奶量的影响虽然不显著，但能增加 1.6 kg/d 的产奶量，说明在 DMI 相同的条件下，有增加产奶量的趋势。这可能

是因为富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂中的过瘤胃胆碱有效清除了肝脏组织中的 TG，硒有效清除了肝脏组织内的自由基，从而维护了肝脏功能，健康状况得到改善，增加了产奶量。本试验中，血浆 TG 含量及 AST 和 ALT 活性显著下降，说明肝脏功能得到有效维护；肝脏组织中 TG 含量显著下降，抗氧化能力显著提高，都印证了富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂充分发挥了胆碱和硒的作用。Sharma 等[22]给产犊后的奶牛灌注 50 g/d 的胆碱，能显著提高奶牛的产奶量。徐国忠等[23]在对泌乳初期的奶牛试验时发现，过瘤胃胆碱能够使产奶量提升，但是对乳成分的影响不大。以上结果与本试验一致。

GPx1 和 GPx4 是硒蛋白，受硒调控，是机体清除氧化产物的重要硒蛋白酶。本试验中，添加富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂显著提高了奶牛肝脏组织中 *GPx*1 的 mRNA 相对表达量，但对 *GPx*4 的 mRNA 相对表达量无显著影响，说明机体 *GPx*1 的 mRNA 相对表达量达到平台值时对饲粮硒的需求大于 *GPx*4，而本试验在基础饲粮中添加的富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂，使饲粮硒含量满足了肝脏组织 *GPx*1 的 mRNA 相对表达量达到平台值时的硒需求量。Christensen 等[24]在研究大鼠硒蛋白 mRNA 表达时，发现缺硒导致肝脏组织 *GPx*1 的 mRNA 相对表达量下降 89%。Sunde 等[25]的试验证实饲粮硒含量改变对大鼠肝脏组织 *GPx*4 mRNA 相对表达量没有显著影响。而周媛丽等[26]在酮病奶牛饲粮中补硒的研究发现，饲粮硒含量达到 0.3 mg/kg 时，再补硒奶牛的 *GPx*1 的 mRNA 相对表达量会显著增加，而 *GPx*4 的 mRNA 相对表达量无显著变化，与本试验结果相一致。

MTTP 是在肝脏细胞内质网上起作用，是将 TG 包装到 VLDL 中并将其从肝脏中分泌出肝脏。而 ApoB100 是 VLDL 的组件部分，参与 VLDL 的分泌。据孙菲菲等[7]报道，胆碱可能通过改变 *ApoB*100 的 mRNA 相对表达量而控制处于围产期的奶牛体内肝脏脂肪的转运。本试验中，试验组奶牛的 *ApoB*100 和 *MTTP* 的 mRNA 相对表达量与对照组相比均显著提高，这可能是因为富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂中的过瘤胃胆碱被奶牛机体吸收，促进了磷脂酰胆碱的合成，进而促进 VLDL 的合成和分泌，引起 ***ApoB***100 和 ***MTTP*** 的 mRNA 相对表达量增加，本试验中各试验组奶牛的肝脏组织中 TG 含量均显著低于对照组可充分说明这点。

4 结　论

① 富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂能显著降低肝脏组织中 TG 含量，有效维护肝功能，减少肝脏损伤。

② 在一定程度上可提高围产期奶牛的产奶量，显著提高奶牛肝脏组织抗氧化能力。

③ 饲粮中富硒和过瘤胃胆碱新型添加剂的最适添加量是 80 g/头·d。

参考文献：

[1] GRUMMER R R.Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow[J].Journal of Animal Science,1995,73(9):2820–2833.

[2] BELL A W.Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation[J].Journal of Animal Science,1995,73(9):2804–2819.

[3] BERTICS S J,GRUMMER R R,CADORNIGA-VALINO C,et al.Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation[J].Journal of Dairy Science,1992,75(7):1914–1922.

[4] ZEISEL S H.Choline:an important nutrient in brain development,liver function and carcinogenesis[J].Journal of the American College of Nutrition,1992,11(5):473–481.

[5] 张继慧,禚梅,李成江.过瘤胃氯化胆碱在奶牛上的应用研究进展[J].中国畜牧兽医,2008,35(5):76–79.

[6] LIMA F S,SÁ FILHO M F,GRECO L F,et al.Effects of feeding rumen-protected choline on incidence of diseases and reproduction of dairy cows[J].Veterinary Journal,2012,193(1):140–145.

[7] 孙菲菲,曹阳春,李生祥,等.胆碱对奶牛围产期代谢的调控[J].动物营养学报,2014,26(1):26–33.

[8] 郑家三,夏成,张洪友,等.过瘤胃胆碱对围产期奶牛生产性能和能量代谢的影响[J] 中国农业大学学报,2012,17(3):114–120.

[9] COOKE R F,DEL RÍO N S,CARAVIELLO D Z,et al.Supplemental choline for prevention and alleviationof fatty liver in dairy cattle[J].Journal of Dairy Science,2007,90(5):2413–2418.

[10] ELEK P,GAÁL T,HUSVÉTH F.Influence of rumen-protected choline on liver composition and blood variables indicating energy balance in periparturient dairy cows[J].Acta Veterinaria Hungarica,2013,61(1):59–70.

[11] PREGEL P,BOLLO E,CANNIZZO F,et al.Antioxidant capacity as a reliable marker of stress in dairy calves transported by road[J].Veterinary Record,2005,156(2):53–54.

[12] STEEN A,GRØNSTØL H,TOIJESEN P A.Glucose and insulin responses to glucagon injection in

dairy cows with ketosis and fatty liver[J].Journal of Veterinary MedicineA,1997,44(9/10):521–530.

[13] DANESI F,MALAGUTI M,NUNZIOM D,et al.Counteraction of adriamycin-induced oxidative damage in rat heart by selenium dietary supplementation[J].Journal of Agricultural and Food Chemistry,2006,54(4):1203–1208.

[14] BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA E,MILLER J K,QUIGLEY J D,et al.Antioxidant status of dairy cows supplemented prepartum with vitamin E and selenium[J].Journal of Dairy Science,1994,77(10):3087–3895.

[15] NRC.Nutrient requirements of dairy cattle[M].7th ed.Washington,D.C.:National Academy Press,2001.

[16] 叶耿坪.富甘油酵母菌制剂对围产期奶牛能量平衡的影响及机理研究[D].博士学位论文.南京:南京农业大学,2014:83–100.

[17] WILDMAN E E,JONES G M,WAGNER P E,et al.A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics[J].Journal of Dairy Science,1982,65(3):495–501.

[18] DE FRAIN J M,HIPPEN A R,KALSCHEUR K F,et al.Feeding glycerol to transition dairy cows:effects on blood metabolites and lactation performance[J].Journal of Dairy Science,2004,87(12):4195–4206.

[19] 吴显实.富硒益生菌在奶牛生产上的应用效果及其作用机理研究[D].博士学位论文.南京:南京农业大学,2009:61–70.

[20] SCHWARTZ D M,WOLINS N E.A simple and rapid method to assay triacylglycerol in cells and tissues[J].Journal of Lipid Research,2007,48(11):2514–2520.

[21] 孙玉成,王雪莹,李红梅,等.干乳期能量摄入水平对围产期奶牛肝载脂蛋白 B100 mRNA 丰度的影响[J].中国兽医学报,2006,26(3):320–322,325.

[22] SHARMA B K,ERDMAN R A.Effects of dietary and abomasally infused choline on milk production responses of lactating dairy cows[J].The Journal of Nutrition,1989,119(2):248–254.

[23] 徐国忠,金华明,梅银财,等.日粮中添加保护氯化胆碱对奶牛泌乳性能的初步研究[J].乳业科学与技术,2003,26(1):32–33,16.

[24] CHRISTENSEN M J,CAMMACK P M,WRAY C D.Tissue specificity of selenoprotein gene expression in rats[J].The Journal of Nutritional Biochemistry,1995,6(7):367–372.

[25] SUNDE R A,DYER J A,MORAN T V,et al.Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase:full-length pig blastocyst cDNA sequence and regulation by selenium status[J].Biochemical and Biophysical Research Communications,1993,193(3):905–911.

[26] 周媛丽,叶耿坪,刘光磊.饲粮硒含量对酮病奶牛氧化应激的缓解作用[J].动物营养学报,2016,28(12):4029–4035.

A New Type of Additive with Selenium and Rumen-Protected Choline: Effects on Production Performance and Health Condition of Dairy Cows in Transition Period

YE Gengping ZHANG Xiaofeng WANG Wendan LIU Guanglei SU Yanjing TANG Xinren*

(*Bright Farming Co., Ltd., Shanghai* 200436, *China*)

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of a new type of additive with selenium and rumen-protected choline on production performance and health condition of dairy cows in transition period. Ninety-six Holstein dairy cows were randomly divided into four groups according to parity, body condition score, total milk yield of the last lactation period and expected date of confinement, which were control group, low dose (LD) group, medium dose (MD) group, and high dose (HD) group, respectively. Each group had 24 cows. Four groups of dairy cows were supplemented with 0, 40, 80 and 120 g/(head·d) the new type of additive with selenium and rumen-protected choline (rumen-protected choline content≥95%, and selenium content≥0.2%), respectively. The pre-test was from day 21 to 15 prepartum, and the test was from day 15 prepartum to day 28 postpartum. Dry matter intake (DMI), plasma biochemical indexes, and antioxidant indexes, mRNA relative expression levels of key antioxidant proteins and lipid transportation proteins in liver were determined. The results showed as follows: 1) DMI, body weight change, body condition score change and delivery coefficient score of dairy cows were not significantly different among groups (P>0.05). 2) Dietary

*Corresponding author, engineer, E-mail: tangxinren2016@163.com （责任编辑 王智航）

supplementation of the new type of additive with selenium and rumen-protected choline had no significant effects on lactation performance, but milk yield of MD group and HD group were 1.8 and 1.6 kg/d higher than that in control group, respectively. 3) At postpartum period, plasma triglyceride (TG) content, aspartate aminotransferase (AST) activity and alanine aminotransferase (ALT) activity in MD group and HD group were significantly lower than those in control group and LD group ($P<0.05$). 4) Selenium content in plasma, liver tissue and milk was significantly higher in MD group and HD group than in control group ($P<0.05$). 5) Compared with control group and LD group， TG content in liver tissue of MD group and HD group was significantly lower ($P<0.05$). 6) Total antioxidant capacity (T-AOC), and the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) in liver tissue of MD group and HD group were significantly higher than those of control group and LD group ($P<0.05$), while contents of malondialdehyde (MDA) and hydrogen peroxide (H_2O_2) were significantly lower than those of control group and LD group ($P<0.05$). 7) Compared with control group, the mRNA relative expression levels of cell type glutathione peroxidase (*GPx*1), microsomal triglyceride transporter (*MTTP*), and apolipoprotein B100 (*ApoB*100) in liver tissue of experimental groups were significantly increased ($P<0.05$), while there was no significant effects on phospholipid glutathione peroxidase (*GPx*4) mRNA relative expression level in liver tissue ($P>0.05$). The results indicate that the new type of additive with selenium and rumen-protected choline tends to increase milk yield， can effectively protected liver function， and the optimal supplemental level is 80 g/(head·d).

Key words: rumen-protected choline; selenium; new type of additive; transition dairy cows; production performance; triglyceride